

LC-30A 测定烟用添加剂中马兜铃酸 A 的含量

LC-141

摘要：本文建立了一种使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 测定烟用添加剂中马兜铃酸 A 的方法。实验结果表明：在浓度范围 0.05 $\mu\text{g/mL}$ ~ 4 $\mu\text{g/mL}$ 内，校准曲线相关系数为 0.9999；进样量 10 μL ，仪器检出限为 0.015 $\mu\text{g/mL}$ ，定量限为 0.05 $\mu\text{g/mL}$ 。标准品的保留时间和峰面积相对标准偏差分别为 0.050 % 和 1.497 %；烟用添加剂样品平均加标回收率在 90.6 %~98.0 % 之间。该方法简便快速，且易操作。

关键词：马兜铃酸 A 烟用添加剂超高效液相色谱

马兜铃酸 (Aristolochic Acids) 是一类具有强烈致癌性和肾毒性的硝基菲羧酸。这类有机化合物天然存在于诸如马兜铃属及细辛属等马兜铃科植物中，而这些植物曾广泛地被用作中草药，马兜铃酸 A 是最常见的一种马兜铃酸类化合物，它可在几乎所有马兜铃属植物中发现。

一些烟草添加剂含有植物提取物，而马兜铃酸 A 有可能会被间接添加到烟草中。因此，检测烟用添加剂中马兜铃酸 A 的含量十分必要。本文参照 YC/T 406-2011，采用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A，分析了烟用添加剂中的马兜铃酸 A，得到了令人满意的分析结果。

实验部分

1.1 仪器

本实验使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 二元高压梯度系统。具体配置为：LC-30AD 输液泵，DGU-20A5R 在线脱气机，SIL-30AC 自动进样器，CTO-30A 柱温箱，SPD-20AV 紫外检测器，CBM-20A 系统控制器，LabSolutions Ver. 5.60SP2 色谱工作站。

1.2 分析条件

色谱柱：Shim-pack XR-ODS II 2.0 mm I.D. \times 75 mm L., 2.2 μm

流动相：A：0.1 % 甲酸水溶液

B：0.1 % 甲酸乙腈溶液

流速：0.5 mL/min

洗脱方式：梯度洗脱，洗脱程序如下：

时间	单元	操作	值
0.01	Pumps	B.Conc	35
3.00	Pumps	B.Conc	65
4.00	Pumps	B.Conc	98
4.50	Pumps	B.Conc	98
5.00	Pumps	B.Conc	35
7.50	Controller	Stop	

进样体积：10 μL

柱温：35 $^{\circ}\text{C}$

检测波长：393 nm

1.3 样品制备

1.3.1 标准溶液配制：

分①标准储备溶液：准确称取 10.0 mg 的马兜铃酸 A 标准品，用甲醇 + 水 (9+1) 定容于 100 mL 容量瓶中，配成浓度为 0.1 mg/mL 的标准储备液，4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱中避光保存。

②标准工作溶液：准确移取适量的马兜铃酸 A 标准储备溶液，用初始流动相稀释成马兜铃酸 A 标准工作溶液，浓度分别为 0.05 $\mu\text{g/mL}$ 、0.1 $\mu\text{g/mL}$ 、0.3 $\mu\text{g/mL}$ 、0.5 $\mu\text{g/mL}$ 、1.0 $\mu\text{g/mL}$ 、2.0 $\mu\text{g/mL}$ 、4.0 $\mu\text{g/mL}$ 。

1.3.2 样品前处理方法：

参照 YC/T 406-2011

结果讨论

2.1 标准样品的色谱图

0.5 μg/mL 的标准样品色谱图如图 1 所示。保留时间为 2.531 min。

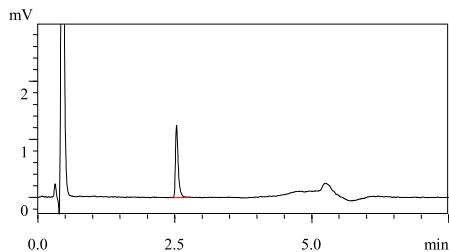


图 1 马兜铃酸 A 标准样品色谱图

2.2 线性关系

将 7 个不同浓度的马兜铃酸 A 标准工作溶液，按前述的分析条件进行测定。以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，外标法制作校准曲线，结果如图 2 所示。标准曲线方程和相关系数结果见表 1。

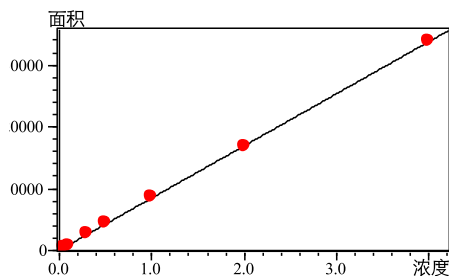


图 2 马兜铃酸 A 的标准工作曲线

表 1 标准曲线方程

Y= aX+b	R
Y=8440.58+54.67	0.9999

2.3 检出限和定量限

根据标准曲线中的最低点 (0.05 μg/mL) 计算仪器的灵敏度，仪器检测限 (3 倍噪声计算)、定量限 (10 倍噪声计算) 分别为 0.015 μg/mL 和 0.05 μg/mL，色谱图如图 3 所示。

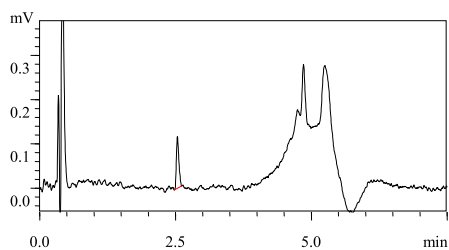


图 3 标准溶液的色谱图(0.05μg/mL)

2.4 精密度实验

取浓度为 0.5 μg/mL 的标准溶液，重复进样 6 次，目标化合物的保留时间和峰面积的相对标准偏差分别为 0.050~1.497%，仪器精密度良好。

表 2 保留时间和峰面积重复性结果 (n=6)

样品编号	R.T.(min)	Area
1	2.531	4,347
2	2.531	4,344
3	2.531	4,405
4	2.530	4,352
5	2.528	4,300
6	2.529	4,213
平均	2.530	4,327
RSD%	0.050	1.497

2.5 基质加标实验

按照上述方法处理烟用添加剂样品, 上机测试, 未检出马兜铃酸 A。在烟用添加剂样品中添加标样, 平行 5 次。烟用添加剂样品色谱图如图 4 所示。烟用添加剂样品加标色谱图如图 5 所示。基质加标回收结果如表 3 所示。

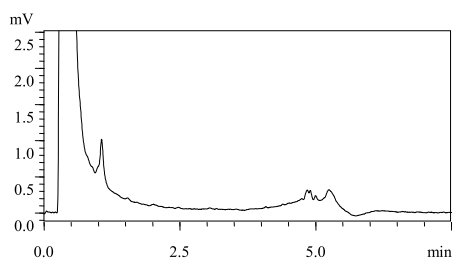


图4 烟用添加剂空白样品的色谱图

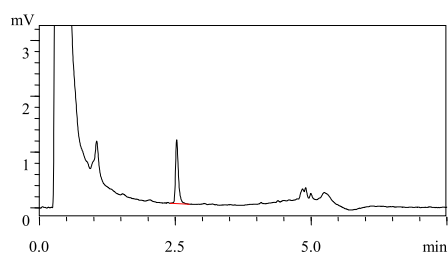

 图5 烟用添加剂加标样品的色谱图
(添加浓度为 12.5 mg/kg)

表3 基质加标回收结果

添加浓度级别	加标量 (mg/kg)	平均回收率 (%)
1	2.5	98.0
2	12.5	91.2
3	25	90.6

表 4 马兜铃酸 A 化合物信息表

中文名称	英文名称	CAS号
马兜铃酸A	Aristolochic Acid A	313-67-7

结论

本文建立了一种使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 测定烟用添加剂中马兜铃酸 A 的方法。实验结果表明: 方法的灵敏度、重复性及线性均良好, 可以满足对此种化合物的分析要求。